

## Trabajo completo

### Dislipemia y adiposidad visceral: efectos de la semilla de chía (*Salvia hispánica* L) dietaria durante los periodos prenatales o luego del destete

RECIBIDO: 07/08/2015

REVISION: 09/09/2015

ACEPTADO: 16/09/2015

Fortino, M.A. • Vargas, M. • Dyke, K. • Contini, L. •  
Rodríguez, S. • Chicco, A.

Cátedra de Química Biológica. Laboratorio de Estudios de Enfermedades Metabólicas Relacionadas con la Nutrición. Departamento de Ciencias Biológicas. Facultad de Bioquímica y Ciencias Biológicas. Universidad Nacional del Litoral. Ciudad Universitaria. S3000ZAA Santa Fe. Argentina. Tel.: (0342) 457 5211. Email: achicco@fbc.unl.edu.

**RESUMEN:** Objetivo: analizar el posible efecto beneficioso de la semilla de chía en el modelo de dislipidemia y adiposidad inducido en los primeros estadios de la vida por una dieta rica en sacarosa (DRS). Durante la preñez y la lactancia (P+L) las madres fueron alimentadas con dieta estándar (R), DRS o DRS donde la chía fue la fuente grasa (DRSC). Al destete las crías de madres R continuaron con R (R-R), las provenientes de madres DRS continuaron con DRS o DRSC (DRS-DRS y DRS-DRSC) y las provenientes de madres DRSC continuaron con DRS (DRSC-DRS). Resultados: 1) la semilla de chía administrada durante la preñez previene el efecto deletéreo de la sacarosa respecto al número de crías por camada; 2) A los

150 días de vida de las crías macho la adiposidad visceral no se modificó por la presencia de la semilla de chía durante la P+L o luego del destete. Peso corporal final, medidas antropométricas e IMC fueron semejantes en todos los grupos. 3) La chía administrada luego del destete y aun en presencia de sacarosa previno la hipertrigliceridemia e hiperglucemia y atenuó el nivel de AGNE. Estos resultados enfatizan la idea de una nutrición adecuada durante los primeros estadios de vida para prevenir enfermedades crónicas del adulto.

**PALABRAS CLAVES:** Dieta rica en sacarosa; Semilla de chía;  $\alpha$ -linolénico; Preñez, lactancia, post-lactancia.

**SUMMARY:** *Dyslipidemia and visceral adiposity: effects of chia seeds (Salvia hispanica L) during prenatal dietary periods or after weaning*

Objective: Analyze the possible chia seed beneficial effect in the dyslipemic animal model induced during early stage of life by a sucrose-rich diet (SRD). Female rats were fed during pregnancy and lactation (P+L) with reference diet (R), SRD or SRD where chia seed was the fat source. At weaning males offspring from R-dams continued with R (R-R), offspring from SRD-dams continued with SRD or SRDC (SRD-SRD and SRD-SRDC) and offspring from SRDC-dams continued with SRD (SRDC-SRD). Results: 1) chia seed administered during pregnancy prevents the deleterious

effect of sucrose on pup's number per litter; 2) At 150 days of age, male's offspring visceral adiposity was not modified by the presence of chia seed during P+L or after weaning. Final body weight, BMI and anthropometric measurements were similar in all groups. 3) Chia seed after weaning, even in the presence of sucrose, prevented hypertriglyceridemia and hyperglycemia and attenuated AGNE content. These results emphasize the idea of an appropriate nutrition in the first stages of life to prevent chronic diseases later in life.

**KEYWORDS:** Sucrose-rich diet; Chia seed;  $\alpha$ -linolenic acid; Pregnancy, lactation, post-weaning.

## Introducción

El medioambiente durante el periodo fetal y en las etapas tempranas de la vida es considerado como uno de los factores determinantes de enfermedades crónicas del adulto tales como obesidad, diabetes tipo 2 y enfermedad cardiovascular. Diferentes modelos animales han sido utilizados para investigar el posible rol del medio fetal en determinar la susceptibilidad a desarrollar enfermedades del adulto y tratar de entender los mecanismos subyacentes. Así, una nutrición materna pobre en proteínas, rica en grasas saturadas, rica en fructosa o una combinación de ambos macronutrientes y abundante sal (junkfood) durante la gestación y/o lactancia han demostrado conducir a alteraciones del metabolismo y la composición corporal en la etapa adulta de la descendencia (1-3).

Tanto el alto consumo en grasa, como el tipo de ácidos grasos presentes en la dieta materna son de gran importancia en diferentes aspectos del desarrollo de sus crías, hecho que ha sido demostrado aun cuando las crías se alimentan con dieta control a partir del destete (4). Los ácidos grasos poliinsaturados (PUFAs), en particular el ácido  $\alpha$ -linolénico (18:3 n-3 ALA) y sus derivados de cadena más larga, eicosapentaenoico (20:5 n-3 EPA) y docosahexaenoico (22:6 n-3 DHA), cumplen un papel importante en el desarrollo fetal (5). Sin embargo, mientras es bien conocido que dietas ricas en n-3 PUFAs reducen la adipogénesis y la lipogénesis en roedores adultos (6), no es claro si un incremento de estos ácidos grasos en los periodos perinatales influencia la masa grasa corporal en las crías. Muhl-

hauser y col. realizaron una revisión sistemática de los estudios que involucran la suplementación a la dieta materna con n-3 PUFAs durante la preñez y la lactancia (al menos durante 2 semanas) y su relación con el porcentaje de grasa corporal o el peso de tejidos adiposos de las crías al destete o luego del mismo. De 13 estudios potenciales fueron admitidos solo cuatro, de los cuales tres mostraron una disminución de la masa grasa en las crías pero solo uno de ellos limitó la intervención al periodo perinatal (7).

Por otra parte, los cambios que resultan de la programación fetal inducidos por nutrientes han sido considerados en general como irreversibles (8). Sin embargo Liu y col (9) demostraron la capacidad del entorno ambiental postnatal en exacerbar los efectos de la programación fetal. Wyrwoll y col. (10) demostraron que la suplementación con n-3 PUFAs (EPA y DHA) desde el destete y hasta los 6 meses de vida es capaz de prevenir la hipertensión, la hiperlipemia y el estado inflamatorio global inducido por la programación con corticoides en la madre durante la preñez y lactancia. Estos cambios favorables aún se observan en presencia de dietas ricas en grasa suministradas a partir del pos-destete (11). Más aún, Hou y col (12) demostraron que la administración de un 6% de aceite de pescado a partir del destete es capaz de prevenir la acumulación de tejido adiposo y la resistencia insulínica programados en ratas por sobrealimentación temprana.

Los estudios que analizan los efectos de los ácidos grasos poliinsaturados durante los primeros estadios de vida se llevaron a cabo con aceites de origen marino o con aceites con alto contenido de ALA (perilla, lino) (11). Una de las fuentes botánicas más ricas en ALA (64% del total de lípidos)

es la semilla de *Salvia hispanica* L (chía). Esta semilla, abundante en fibras, proteínas, minerales, antioxidantes e isoflavonas (13) es utilizada por la población desde épocas precolombinas. Al presente son escasos y recientes los trabajos, a nivel humano y experimental, que analizan algunos aspectos puntuales de los posibles efectos beneficiosos del consumo de chía dietaria sobre las alteraciones bioquímicas-metabólicas-funcionales de las enfermedades crónicas del adulto (14,15). En ratas adultas dislipémicas insulino resistentes Pouydal y col. (16,17) constataron efectos beneficiosos de la suplementación con semilla de chía sobre el metabolismo glucídico y lipídico y la adiposidad visceral. Por otro lado, utilizando el modelo experimental no genético de dislipemia y resistencia insulínica inducido en ratas adultas por ingesta rica en sacarosa demostramos efectos similares a los descritos por Pouydal asociados a una normalización de la esteatosis hepática (18-20).

Los interesantes efectos beneficiosos de la semilla de chía previamente descritos en animales adultos, no han sido aún analizados cuando este nutriente se administra durante los primeros estadios de vida o post-lactancia bajo la hipótesis de su posible rol en mejorar la susceptibilidad a desarrollar enfermedades del adulto. Al respecto en trabajos previos (21,22) hemos demostrado que una dieta rica en sacarosa (DRS) cuya fuente grasa es aceite de maíz (AM: rico en ácido linoleico LA) administrada durante la preñez y lactancia ejerce su efecto deletéreo en la progenie adulta (dislipidemia, intolerancia a la glucosa y adiposidad visceral), dentro del fenómeno de programación fetal. Por otra parte cuando la misma dieta es administrada luego del destete no se pudo demostrar el efecto pro-

ector predictivo (2) que se sugiere cuando el medio fetal y el post-natal son iguales. Este modelo nutricional resulta adecuado para investigar los efectos de la sustitución parcial del tipo de ácidos grasos dietarios, aceite de maíz rico en LA por semilla de chía rico en ALA (DRS+chía) en base a dos objetivos: 1) Testear si la sustitución en madres que consumen durante la preñez y lactancia DRS+chía puede beneficiar la adiposidad visceral y los lípidos plasmáticos en la etapa adulta de la descendencia que se alimenta durante la post-lactancia con DRS; 2) Analizar si la administración post-lactancia de una dieta DRS+chía puede modificar las alteraciones producidas por la ingesta temprana de DRS durante la preñez y la lactancia.

### **Materiales y Métodos**

#### **• Animales y Dietas**

Se utilizaron ratas hembras de la cepa Wistar provenientes del Centro de Experimentaciones Biológicas y Bioterio, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional del Litoral, Esperanza (Santa Fe) Argentina, con un peso inicial de 200- 230 gramos. Los machos para el apareo fueron de la misma especie. Los animales fueron alojados en un bioterio climatizado con ciclo luz-oscuridad de 12 horas (7:00 – 19:00), temperatura constante ( $22\pm 1^{\circ}\text{C}$ ) y humedad controlada, con libre acceso al agua y a una dieta estándar comercial de laboratorio (GEPSA rata ratón, Pilar, Buenos Aires, Argentina; % p/p: proteínas 24%, grasa 6%, hidratos de carbono complejo 42%, fibras 7%, vitaminas y minerales 8%, agua 13%, 15,33 kJ/gr de comida). Cada hembra fue apareada con un macho y se determinó la preñez por aparición de espermatozoides en el flujo vaginal (día uno de gestación). A este

tiempo, las ratas hembras fueron divididas al azar en tres grupos, transferidas a jaulas individuales y asignadas a las siguientes dietas: el primer grupo continuó con la dieta estándar comercial, conformando el grupo de referencia (R). El otro grupo recibió una dieta rica en sacarosa (DRS) donde la fuente de hidratos de carbono fue sacarosa 62,5 % p/p y la fuente grasa aceite de maíz al 6% (rico en ácido linoleico, 18:2 n-6). El tercer grupo fue alimentado con la DRS donde se sustituyó parcialmente la fuente grasa, aceite de maíz, por la semilla de chía (DRS+chía). El contenido de carbohidratos, proteínas, fibras, minerales y vitaminas en la dieta DRS+chía fue balanceado teniendo en cuenta el contenido de estos nutrientes en la semilla de chía. La composición de la semilla de chía fue provista por Agrisalva S.A. Bs Aires, Argentina. El resto de los componentes de las dietas fueron de acuerdo a lo establecido por el Comité ad Hoc del Instituto Americano de Nutrición, según se detalla en la **Tabla 1**. Las dietas son isoenergéticas, y proveen aproximadamente 15.75 kJ/ g de comida y fueron preparadas semanalmente. La preparación y el manejo de las dietas han sido descritos previamente (18,19). La **Tabla 2** muestra la composición de ácidos grasos del aceite de maíz y de la semilla de chía. Al nacer, las crías fueron pesadas y reducidas a un número de 8 por madre, en lo posible con el mismo número de crías hembras y crías machos y mantenidas con sus propias madres hasta el destete. A este tiempo (21 días post parto) las crías machos del lote R continuaron con la misma dieta conformando el grupo R-R, considerado como referencia. Las crías de madres alimentadas con DRS+chía fueron alimentadas con DRS formando el grupo DRSC-DRS (objetivo 1). Finalmente, las crías machos de las madres

**Tabla 1.** Composición de las dietas experimentales<sup>1</sup>

Componentes dietarios <sup>2</sup>	DRS	DRS+chía
	% energía	
<b>Carbohidratos</b>		
Almidón	1,5	-----
Sacarosa	63,8	63,8
Semilla de chíá <sup>3</sup>	-----	1,5
<b>Grasa</b>		
Aceite de maíz	16,8	2,3
Semilla de chíá	-----	14,5
<b>Proteínas</b>		
Caseína	18	13,5
Semilla de Chíá	-----	4,5

1: dieta rica en sacarosa (DRS), dieta rica en sacarosa con semilla de chíá (DRS+chía)

2: Las dietas están basadas en la dieta AIN-93M. Todas las dietas contienen (%p/p): mezcla de sales: 3,5 (AIN-93Mx); mezcla de vitaminas: 1 (AIN-93Vx); cloruro de colina: 0,2; metionina: 0,3; fibra: 12.

3: Semilla de chíá (Salba; *Salvia hispánica* L.): 200 g/Kg dieta. Composición de la semilla de chíá (g/100g de semilla): carbohidratos 37,45; fibra insoluble 81% del total de los carbohidratos; grasa 30,23; proteína: 21,19. Composición en minerales (mg/100g de chíá): sodio 103,15; potasio 826,15; calcio 589,60; hierro 11,90; magnesio 77,0; fósforo 604,0; zinc 5,32; cobre 1,66; manganeso 1,36.

**Tabla 2.** Composición en ácidos grasos del aceite de maíz y semilla de chíá

Ácidos grasos <sup>1</sup>	Aceite de maíz	Semilla de chíá <sup>2</sup>
	g/100 g ácidos grasos totales	
16:0	10,40	6,60
18:0	2,60	2,80
18:1 <i>n</i> -9	32,10	6,80
18:2 <i>n</i> -6	51,50	18,60
18:3 <i>n</i> -3	0,76	64,60
20:1 <i>n</i> -9	0,45	0,30
<b>Saturados totales</b>	13,40	12,04
<b>Monoinsaturados</b>	32,44	7,44
<b>Poliinsaturados</b>		
<i>n</i> -6	51,50	18,60
<i>n</i> -3	0,76	64,60
<i>n</i> -6: <i>n</i> -3	67,80	0,287

1: ácidos grasos menores han sido excluidos

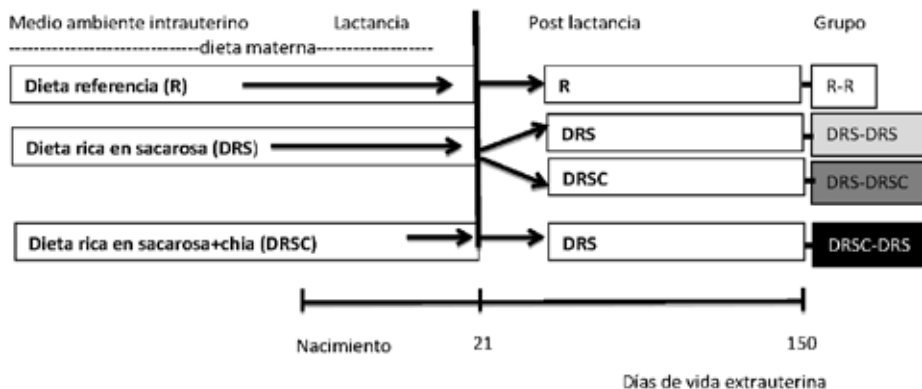
2: *Salvia hispánica* L (Agrisalba SA, Buenos Aires, Argentina).

alimentadas con DRS fueron divididas al azar y alimentadas con DRS o DRS+chía conformando los grupos DRS-DRS y DRS-DRSC (Objetivo 2). Todas las crías de los diferentes lotes continuaron con sus respectivas dietas hasta los 150 días de vida como se describe en el Protocolo experimental (Figura 1). La elección de realizar el estudio con las crías machos tiene como objetivo evitar el efecto de las hormonas sexuales (estrógeno) sobre el metabolismo lipídico. El tiempo de 150 días de vida fue elegido de acuerdo a los resultados observados en estudios previos (21,22). A lo largo de los respectivos períodos experimentales, tanto las madres como las crías tuvieron libre acceso al agua y comida y fueron mantenidas en condicio-

nes controladas de bioterio antes descritas. El peso y la ingesta calórica desde el destete y hasta los 150 días de vida se determinaron semanalmente. Al final del período experimental, se retiró la comida a las 7.00 hs (final del período de oscuridad) y los experimentos se llevaron a cabo entre las 8.00 y las 10.00 hs. El protocolo experimental fue aprobado por el Comité de Ética de la Facultad de Bioquímica y Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional del Litoral.

Seis animales de cada grupo dietario fueron usados en cada análisis. Los animales fueron anestesiados con una inyección de pentobarbital (60 mg/kg peso corporal). Las muestras de sangre fueron extraídas de la vena cava inferior, recolectadas en tubos

Figura 1. Protocolo experimental



R-R: crías machos nacidas de madres alimentadas con R y alimentadas con R desde el destete y hasta los 150 días de vida

DRS-DRS: crías machos nacidas de madres alimentadas con DRS y alimentadas con DRS desde el destete y hasta los 150 días de vida.

DRSC-DRS: crías machos nacidas de madres alimentadas con DRSC y alimentadas con DRS desde el destete y hasta los 150 días de vida.

DRS-DRSC: crías machos nacidas de madres alimentadas con DRS y alimentadas con DRSC desde el destete y hasta los 150 días de vida.

conteniendo EDTAN a como anticoagulante y centrifugadas inmediatamente a 2700 g por 10 minutos a temperatura ambiente. El plasma obtenido fue utilizado inmediatamente o conservado a  $-20^{\circ}\text{C}$  hasta su procesamiento (aproximadamente 1 semana). Inmediatamente se extrajeron y se pesaron el tejido hepático, el músculo cardíaco y los tejidos adiposos epididimal, retroperitoneal y omental. La adiposidad visceral fue calculada como el porcentaje de la suma de los tres tejidos adiposos en función del peso corporal.

• *Medidas antropométricas*

A los 150 días de vida en los animales anestesiados (como se describió previamente) se midió la circunferencia abdominal y torácica y la longitud corporal (narizano). El peso y la longitud corporal fueron utilizados para determinar el índice de masa corporal (IMC).

• *Métodos analíticos*

El contenido de triglicéridos (TG), ácidos grasos no esterificados (AGNE) y glucosa fueron cuantificados por métodos espectrofotométricos convencionales como describimos previamente (21-23).

• *Estudios estadísticos*

El tamaño de las muestras se calculó sobre la base de determinaciones realizadas previamente en nuestro laboratorio en ratas alimentadas con DC y DRS (21-23). Los resultados fueron expresados como media  $\pm$  SEM. Diferencias estadísticas entre los grupos experimentales fueron analizadas por Análisis de Varianza (ANOVA) con dieta y tratamiento como los efectos principales y posterior test de Tukey, y /o test de Student (24). Valores de  $p < 0.05$  se consideraron estadísticamente significativos.

**Resultados**

*Ganancia de peso e ingesta energética de las madres alimentadas con DC, DRS o DRSC, número de crías por camada.*

Como demostramos previamente (23,25), la ganancia de peso de las madres alimentadas con DRS durante la preñez ( $\Delta$  de peso desde el día 1 hasta el día 21 de gestación) y el número de crías al nacimiento fue ligera pero significativamente menor comparadas con el lote alimentado con dieta estándar. La presencia de chía en la dieta materna normalizó tanto el incremento de peso materno como el número de crías nacidas. No se observó diferencias en la ingesta energética materna durante la preñez (**Tabla 3**).

**Tabla 3.** Modificaciones del peso corporal e ingesta energética de las madres durante la preñez y número de crías al nacer<sup>1</sup>

	$\Delta$ Peso madres (g) (0-21 días de gestación)	Ingesta energética (kJ/rata x día)	N° de crías <sup>2</sup>
<b>R</b>	115,5 $\pm$ 3,03	336,92 $\pm$ 30,19	11,20 $\pm$ 0,58
<b>DRS</b>	90,81 $\pm$ 6,26 *	315,16 $\pm$ 22,34	9,00 $\pm$ 0,28*
<b>DRSC</b>	122,15 $\pm$ 2,27	310,42 $\pm$ 27,21	12,0 $\pm$ 0,41

<sup>1</sup>: R: dieta estándar; DRS: dieta rica en sacarosa; DRSC: DRS+chía. Los resultados se expresan como media  $\pm$  SEM, n=6. <sup>2</sup>: Calculado a partir del promedio de cada una de las seis madres incluidas en cada grupo. \*:  $p < 0,05$  vs R y DRSC

- *Parámetros antropométricos, ingesta energética de las crías y adiposidad visceral en las crías a los 150 días de vida.*

En la **Tabla 4** se detallan las medidas antropométricas de los distintos grupos experimentales. No se observan diferencias en la longitud naso-anal, circunferencia abdominal y torácica en las crías de las madres alimentadas con R, DRS o DRSC durante la preñez y la lactancia. La presencia de chíá luego del destete no modifica ninguno de los parámetros mencionados. Si bien la ingesta energética y el peso corporal final son semejantes en los diferentes grupos dietarios (**Tabla 4**), los pesos de los

tejidos adiposos epididimal, retroperitoneal y omental así como y el índice de adiposidad visceral se ven incrementados significativamente en los grupos donde las DRS estuvo presente durante la preñez y la lactancia (**Figura 2**). Cuando la chíá es utilizada como la mayor parte de la grasa dietaria, no se logran normalizar los pesos de los tejidos adiposos individuales ni el índice de adiposidad visceral ya sea que la misma esté presente en la dieta durante la preñez y lactancia o luego del destete. No se observan diferencias significativas en el peso absoluto o relativo del tejido hepático y cardiaco entre los distintos grupos (datos no mostrados).

**Tabla 4.** Características antropométricas e ingesta energética de los diferentes lotes experimentales a los 150 días de vida<sup>1</sup>

	R-R	DRS-DRS	DRSC-DRS	DRS-DRSC
Peso corporal (g)	460,50 ± 10,90	480,20 ± 12,83	486,92 ± 8,73	452,22 ± 9,98
Longitud naso-anal (cm)	25,10 ± 0,27	24,30 ± 0,29	25,00 ± 0,28	24,12 ± 0,35
Circunferencia abdominal (cm)	21,06 ± 0,47	21,1 ± 0,29	20,40 ± 0,34	20,20 ± 0,16
Circunferencia torácica (cm)	17,60 ± 0,58	17,2 ± 0,12	18,00 ± 0,27	17,50 ± 0,29
Índice de Masa Corporal (g/cm <sup>2</sup> )	0,74 ± 0,01	0,78 ± 0,02	0,78 ± 0,01	0,77 ± 0,03
Ingesta calórica (kJ/rata x día)	300,16 ± 11,50	294,53 ± 10,20	283,96 ± 11,42	285,15 ± 10,10

1: Los resultados se expresan como media ± SEM, n=6.

R-R: dieta materna R y dieta post-destete R; DRS-DRS: dieta materna DRS y dieta post-destete DRS; DRSC-DRS: dieta materna DRS+chía y dieta post-destete DRS; DRS-DRSC: dieta materna DRS y dieta post-destete DRS+chía.

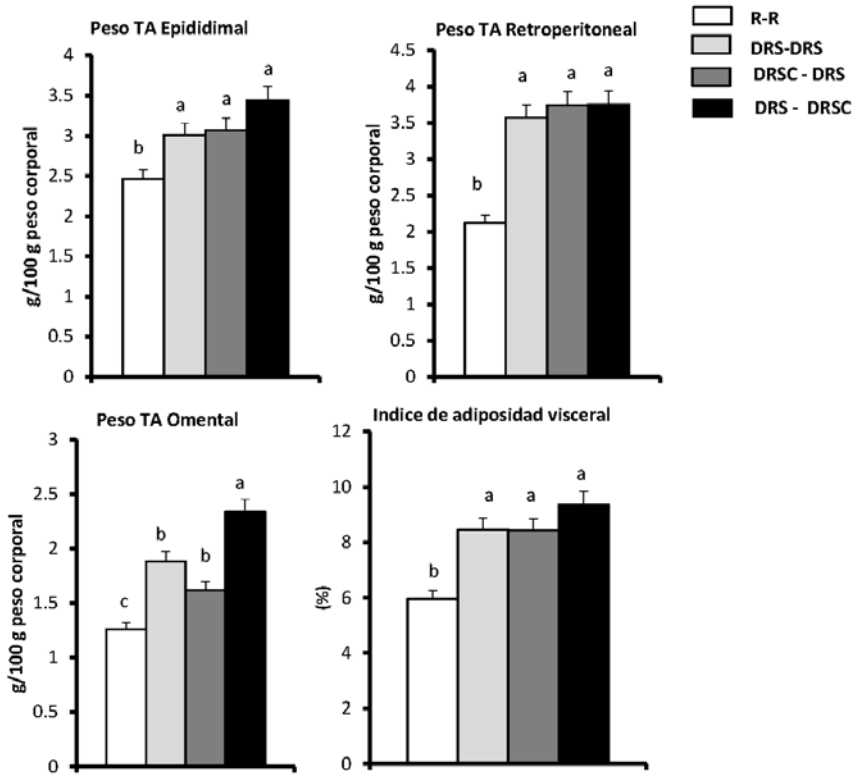
- *Niveles de triglicéridos (TG), ácidos grasos libres (AGNE) y glucosa en las crías a los 150 días de vida*

La **Figura 3** describe los niveles plasmáticos de lípidos y glucosa en las crías de los diferentes grupos a 150 días de vida. Los elevados contenidos de glucosa, TG y AGNE observados cuando la sacarosa está presente en el período prenatal y postnatal (grupo DRS-DRS) no logran prevenirse por

la presencia de chíá como fuente grasa dietaria durante la preñez y la lactancia (grupo DRSC-DRS). Por otra parte cuando el aceite de maíz es parcialmente reemplazado por chíá en la DRS en la dieta post destete (grupo DRS-DRSC), se observa una normalización en el contenido de glucosa y TG y una significativa reducción del contenido de AGNE plasmáticos.



**Figura 2.** Peso de los tejidos adiposos epididimal, retroperitoneal y omental y adiposidad visceral en crías de los diferentes grupos experimentales a los 150 días de vida<sup>1</sup>



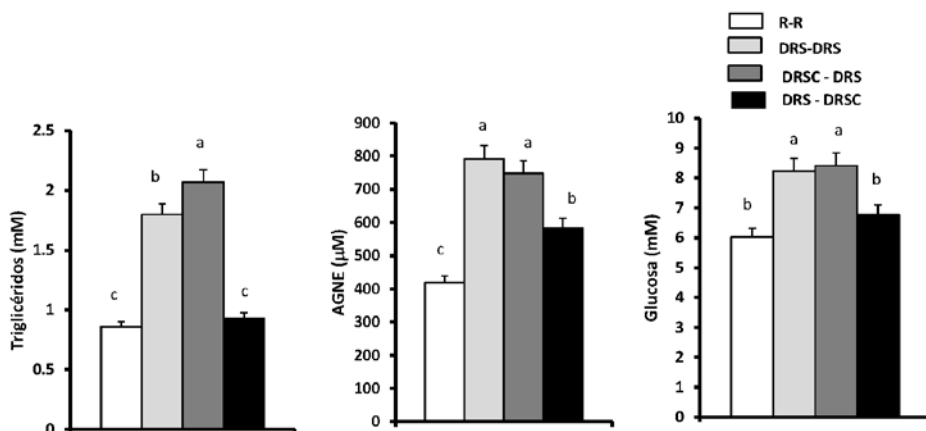
<sup>1</sup>: Los resultados se expresan como media  $\pm$  SEM, n=6. Las medias que no comparten la misma letra supra escrita son diferentes estadísticamente ( $p < 0.05$ ) cuando cada variable fue analizada por el test de Tukey. R-R: dieta materna R y dieta post-destete R; DRS-DRS: dieta materna DRS y dieta post-destete DRS; DRSC-DRS: dieta materna DRS+chia y dieta post-destete DRS; DRS-DRSC: dieta materna DRS y dieta post-destete DRS+chia.

## Discusión

Diferentes tipos de stress durante la vida intrauterina y postnatales tempranos, incluidos una mala nutrición, tienen un rol importante en el desarrollo de las enfermedades crónicas del adulto. Utilizando el modelo de adiposidad inducido en los primeros estadios de la vida por una dieta rica en sacarosa analizamos en las crías macho a los 150 días de vida el posible efecto beneficioso de la semilla de chíá (rica en ácidos

grasos poliinsaturados, n-3 PUFA) durante la preñez y la lactancia o luego del destete. Los principales hallazgos fueron: 1) la semilla de chíá administrada durante la preñez previene el efecto deletéreo de la sacarosa observado en el número de crías por camada; 2) A los 150 días de vida de las crías macho adultas la adiposidad visceral no se modificó por la presencia de la semilla de chíá durante la preñez y lactancia o

**Figura 3.** Contenido plasmático de triglicéridos, ácidos grasos no esterificados (AGNE) y glucosa en crías de los diferentes grupos experimentales a los 150 días de vida<sup>1</sup>



<sup>1</sup>: Los resultados se expresan como media  $\pm$  SEM, n=6. Las medias que no compartan la misma letra supra escrita son diferentes estadísticamente ( $p < 0.05$ ) cuando cada variable fue analizada por el test de Tukey.

R-R: dieta materna R y dieta post-destete R; DRS-DRS: dieta materna DRS y dieta post-destete DRS; DRSC-DRS: dieta materna DRS+chia y dieta post-destete DRS; DRS-DRSC: dieta materna DRS y dieta post-destete DRS+chia.

luego del destete. El IMC mostró un patrón similar pero sin diferencias estadísticas significativas. Tanto el peso corporal final como las medidas antropométricas fueron semejantes en todos los lotes. 3) La presencia de chía previno el desarrollo de la hipertrigliceridemia y el incremento de los niveles de glucosa de manera completa y el contenido de ácidos grasos libres circulantes de forma parcial, cuando fue administrada luego del destete, hecho que se observó aun en presencia de sacarosa en la dieta.

Dietas ricas en sacarosa durante la preñez en ratas mostraron tener consecuencias discrepantes sobre el número de crías según el tipo y cantidad de carbohidratos y la especie analizados (25,26). Efectos teratogénicos como mayor número de resorciones fue observado con dietas con alto contenido en sacarosa (63% o 72% p/p) (25,27), y confirmado en el presente trabajo (menor número

de crías al nacimiento en el grupo DRS). Dietas con alto contenido de fructosa crean un medio pro oxidante y el estrés oxidativo inducido se relaciona con alteraciones endocrinas y metabólicas (28,29). Škottová, y col (30) demostraron -en ratas- que una dieta con 72% de sacarosa durante dos semanas induce un elevado estrés oxidativo tanto en sangre periférica como en tejido hepático. Si bien en el presente estudio no analizamos marcadores de estrés oxidativo en las ratas durante la gestación, es conocido que estas alteraciones tienen una influencia negativa muy importante en los periodos de gestación y lactancia (31). Por otra parte la semilla de chía, fuente importante de flavonoides, ha demostrado disminuir el estrés oxidativo y la inflamación en modelos animales de síndrome metabólico inducido por la nutrición (17,32). Dentro de estos flavonoides, la querucitina posee múltiples actividades biológicas,

particularmente efecto protector sobre células endometriales de ratas preñadas (33). Esto podría ser –al menos– uno de los factores que conduzcan a preservar el número de crías por camada en el grupo donde la chíá estuvo presente durante la preñez aun en presencia de sacarosa en la dieta.

- *Efecto de la semilla de chíá en el periodo prenatal y la lactancia.*

Similitud en el peso corporal final, la ingesta energética, la adiposidad visceral, las medidas antropométricas, los lípidos plasmáticos y la glucemia, fueron observados en los grupos donde la sacarosa estuvo presente a lo largo de la vida, independientemente de la presencia de chíá como fuente grasa durante la preñez y lactancia. El tipo de ácidos grasos dietarios en la ingesta materna es de gran importancia en diferentes aspectos del desarrollo de las crías. Un contenido excesivo de ácido linoléico (LA, 18:2 n-6) durante la gestación y la lactancia o en las crías en los periodos tempranos de la infancia es un factor determinante de diferentes eventos fisiológicos que se llevan a cabo cuando el tejido adiposo está aún en fase dinámica de su desarrollo y conlleva a una mayor adipogénesis (34). Por otro lado, diferentes trabajos muestran efectos beneficiosos de los ácidos grasos poliinsaturados en etapas tempranas de la vida. Vijay Kumar Reddy y col (35) demostraron recientemente que la suplementación con ácido alfa-linolénico a dietas normales durante la preñez y la lactancia reduce el peso del tejido adiposo retroperitoneal en las crías a los 21 días de vida. Korotva y col (36) compararon dietas maternas con diferente fuente de grasa (7% p/p) y analizaron el peso del tejido adiposo inguinal de las crías al destete. Sus resultados demos-

traron un menor peso relativo del tejido adiposo cuando la fuente grasa fue el aceite de lino (33 mol% de ALA y 14 mol% LA) comparado con aceite de soja (6,2 mol % ALA y 56 mol% LA) o aceite de girasol (0,3 mol% ALA y 65 mol% de LA). Por otra parte, Ching y col (37) demostraron en crías adultas, que la administración de bittermelon (melón amargo: fuente importante de fitonutrientes, folatos y vitaminas) en forma conjunta con fructosa durante la preñez y lactancia mejora los niveles de colesterol y ácidos grasos sin efecto sobre la hiperinsulinemia cuando la fructosa sigue presente luego del destete. La suplementación perinatal de micronutrientes (38) o L-arginina más antioxidante incluyendo vitamina C, vitamina E y taurina mostraron mejorar la hipertensión en crías adultas (39). La semilla de chíá, como mencionáramos anteriormente, contiene además de un alto contenido de ácido alfa-linolénico, antioxidantes, fibras e isoflavonas, que podrían ejercer un efecto protector. Al menos bajo nuestras condiciones experimentales, en este trabajo preliminar no pudimos confirmar la hipótesis de un posible efecto beneficioso de la semilla de chíá administrada en forma conjunta con la sacarosa durante la preñez y la lactancia, cuando las crías continúan con la dieta rica en sacarosa luego del destete. Cabe considerar que la disparidad de los resultados se debe fundamentalmente a los diferentes tipos de dietas administradas en los periodos perinatales y postnatales y al tiempo de vida donde se estudian las crías.

- *Efecto de la semilla de chíá administrada luego del destete en crías de madres DRS.*

La presencia de chíá en la dieta a partir del destete es capaz de prevenir el desarro-

llo de la hipertigliceridemia y los elevados niveles de glucosa circulante, mejorando notablemente los niveles plasmáticos de ácidos grasos libres, si bien no se modifica la elevada adiposidad visceral. Todos estos hallazgos son observados aun en presencia de la sacarosa en la dieta luego del destete. Recientemente constatamos en crías adultas que la dislipidemia, la lipotoxicidad (elevados niveles de triglicéridos en hígado, corazón y músculo esquelético), programados por una dieta rica en sacarosa fueron prevenidos por la presencia de n-3 PUFAs (aceite de pescado rico en DHA y EPA) en la dieta durante la post lactancia. (23). Más aun esta fuente de n-3 PUFA de origen animal fue capaz de mejorar notablemente la adiposidad visceral, lo que marca una diferencia con los hallazgos descriptos en el presente trabajo. Inicialmente se postulaba que el ALA era un pobre precursor del DHA, debido a su baja velocidad de conversión en humanos (40). Gibson y col (41) mostraron que el ALA puede ser un buen precursor de los PUFA n-3 de cadena larga, especialmente el EPA. Al presente no conocemos estudios que hayan analizado el efecto de la administración de chía luego del destete en crías donde se induce dislipemia y obesidad visceral en etapas tempranas de la vida. En ratas dislipemicas insulino resistente por administración de dieta rica en grasa y fructosa, la administración de chía condujo a una reducción del índice de adiposidad y una redistribución de los lípidos del área abdominal mejorando el grado de inflamación crónica (16-17). Más aún, trabajos de nuestro grupo (18-20) usando el modelo nutricional de dislipemia y resistencia insulínica inducido en ratas adultas por ingesta crónica de sacarosa demostraron que la sustitución de la fuente grasa dietaria

(aceite de maíz por semilla de chía) induce: 1) mejoramiento de la adiposidad visceral, reducción del tamaño de los adipocitos, mejoramiento de la distribución celular, de las actividades de enzimas lipogénicas, de la lipólisis y de la acción antilipolítica de la insulina; 2) reversión de la dislipidemia y la insulino resistencia sin cambios en los niveles de insulina; 3) mejoramiento sensible de la esteatosis hepática por mecanismos que inducen "downregulation" del SREBP1c y de las actividades de enzimas target involucradas en la lipogénesis y "up regulation" del PPAR $\alpha$  y enzimas claves de la oxidación de ácidos grasos, mejorando la resistencia insulínica periférica global. Algunos de los mecanismos descriptos previamente podrían estar implicados en el modelo de inducción prenatal de dislipidemia y alterada homeostasis de la glucosa. Futuros trabajos son necesarios para tratar de dilucidar el efecto beneficioso de la chía observado en este trabajo.

En resumen, los resultados del presente estudio muestran un posible efecto beneficioso de la semilla de chía en la prevención de alguna de las alteraciones descriptas por inducción temprana de dietas ricas en sacarosa en animales de experimentación. Si bien estos resultados no pueden extrapolarse al humano, enfatizan la idea que una nutrición adecuada durante los primeros estadios de vida es importante para prevenir enfermedades crónicas del adulto.

### **Agradecimientos**

El presente estudio fue llevado a cabo con el financiamiento de la Universidad Nacional del Litoral, PI 50120110100032LI (CAI+D 2012). Un agradecimiento especial para el Sr. Walter Da Ru por su asistencia técnica.

### Referencias bibliográficas

1. Hales, C.N.; Barker, D.J.P., 2001. The thrifty phenotype hypothesis. *Br. Med. Bull.* **60**:5-20.
2. Gluckman, P.D.; Hanson, M.A., 2004. Developmental origins of disease paradigm: a mechanistic evolutionary perspective. *Pediatric Res.* **56**: 311-317.
3. Taylor, P.D.; Poston, L., 2007. Developmental programming of obesity in mammals. *Exp.Physiol.* **92**: 287-298.
4. Massiera, F.; Saint-Marc, P.; Seydoux, J.; Murata, T.; Kobayashi, T.; Narumiya, S.; Guesnet, P.; Amri, E-Z.; Negrel, R.; Ailhaud, G., 2003. Arachidonic acid and prostacyclin signaling promote adipose tissue development: a human health concern? *J. Lip. Res.* **44**: 271-279.
5. Azain, M.J., 2004. Role of fatty acids in adipocyte growth and development. *J. Anim. Sci.* **82**: 916-924.
6. Lombardo, Y.B.; Chicco, A., 2006. Effect of dietary polyunsaturated n-3 fatty acids on dyslipemic, insulin resistance in rodents and humans. A Review. *J. Nutritional Biochemistry.* **17**: 1-13.
7. Muhlhausler, B.S.; Gibson, R.A.; Makrides, M., 2011. The effect of maternal omega-3 long-chain polyunsaturated fatty acid (n-3 LCPUFA) supplementation during pregnancy and/or lactation on body fat mass in the offspring: A systematic review of animal studies. *Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids.* **85**: 83-88.
8. Vickers, M.H.; Sloboda, D.M., 2010. Prenatal nutritional influences on obesity risk in offspring. *Nutrition and Dietary Supplements.* **2**: 137-149.
9. Liu, Z.; Lim, C.Y.; Su, M.Y-F.; Soh, S.L.Y.; Shui, G.; Wenk, M.R.; Grove, K.L.; Radda, G.K.; Han, W.; Xiao, X., 2013. Neonatal overnutrition in mice exacerbates high-fat diet-induced metabolic perturbations. *J. of Endocrinol.* **219**: 131-143.
10. Wyrwoll, C.S.; Mark, P.J.; Mori, T.A.; Puddey, I.B.; Waddell, B.J., 2006. Prevention of programmed hyperleptinemia and hypertension by postnatal dietary w-3 fatty acids. *Endocrinology* **147**: 599-606.
11. Zulklaflii, I.S.; Waddell, B. J.; Mark, P.J., 2013. Postnatal dietary omega-3 fatty acid supplementation rescues glucocorticoid programmed adiposity, hypertension, and hyperlipidemia in male rat offspring raised on a high-fat diet. *Endocrinology.* **154**: 3110-3117.
12. Hou, M.; Ji, C.; Wang, J.; Liu, Y.; Sun, B.; Guo, M.; Buren, J.; Li, X., 2012. The effects of dietary fatty acid composition in the post-suckling period on metabolic alterations in adulthood: can  $\omega$ 3 polyunsaturated fatty acids prevent adverse programming outcomes? *J. Endocrinol.* **215**: 119-127.
13. Weber, C.W.; Gentry, H.S.; Kohlhepp, E.A.; McCrohan, P.R., 1991. The nutritional and chemical evaluation of chia seeds. *Ecology of Foods and Nutrition* **26**: 119-125.
14. Ulbricht, C.; Chao, W.; Nummy, K.; Rusie, E.; Tanguay-Colucci, S.; Iannuzzi, C.M.; Plammoottil, J.B.; Varghese, M.; Weissner, W., 2009. Chia (*Salvia hispanica*): a systematic review by the natural standard research collaboration. *Reviews on Recent Clinical Trials.* **4**: 168-174.
15. Vuksan, V.; Whitham, D.; Sievenpiper, J.L.; Jenkins, A.L.; Rogovik, A.L.; Bazinet, R.P.; Vidgen, E.; Hanna, A., 2007. Supplementation of conventional therapy with the novel grain Salba (*Salvia hispanica* L.) improves major and emerging cardiovascular risk factors in type 2 diabetes: results of a randomized controlled trial. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17686832> *Diabetes Care.* **30**: 2804-2810.
16. Poudyal, H.; Panchal, S.K.; Waanders, J.; Ward, L.; Brown, L., 2012. Lipid redistribution by  $\alpha$ -linolenic acid-rich chia seed inhibits stearoyl-CoA desaturase-1 and induces cardiac and hepatic protection in diet-induced obese rats. *J. Nutr. Biochem.* **23**: 153-162.
17. Poudyal, H.; Panchal, S.K.; Ward, L.C.; Brown, L., 2013. Effects of ALA, EPA and DHA in high-carbohydrate, high-fat diet-induced metabolic syndrome in rats. *J.Nutr.Biochem.* **24**: 1041-1052.
18. Chicco, A.; D'Alessandro, M.E.; Hein, G.; Oliva, M.E.; Lombardo, Y.B., 2009. Dietary chia seed (*Salvia hispanica* L.) rich in alpha-linolenic acid improves adiposity and normalises hypertriacylglycerolaemia and insulin resistance in dyslipaemic rats. *British J.ofNutrition* **101**: 41-50.

19. Oliva, M.E.; Ferreira, M.R.; Chicco, A.; Lombardo, Y.B., 2013. Dietary Salba (*Salvia hispanica* L) seed rich in  $\alpha$ -linolenic acid improves adipose tissue dysfunction and the altered skeletal muscle glucose and lipid metabolism in dyslipidemic insulin-resistant rats. *Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids*. **89**: 279–289.
20. Rossi, A.S.; Oliva, M. E.; Ferreira, M. R.; Chicco, A.; Lombardo, Y. B., 2013. Dietary chia seed induced changes in hepatic transcription factors and their target lipogenic and oxidative enzyme activities in dyslipidaemic insulin-resistant rats. *British J. of Nutrition*. **109**: 1617–1627.
21. D'Alessandro, M.E.; Oliva, M.E.; Ferreira, M.R.; Selenscig, D.; Lombardo, Y.B.; Chicco, A., 2012. Sucrose-rich feeding during rat pregnancy-lactation and/or after weaning alters glucose and lipid metabolism in adult offspring. *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol*. **39**: 623-629.
22. D'Alessandro, M.E.; Oliva, M.E.; Fortino, M.A.; Chicco, A., 2014. Maternal sucrose-rich diet and fetal programming: changes in hepatic lipogenic and oxidative enzymes and glucose homeostasis in adult offspring. *Food & Function*. **5**: 446-453.
23. Chicco, A.; Creus, A.; Illesca, P.; Rodriguez, S.; Fortino, A., 2015. Postnatal dietary omega-3 fatty acid effects on lipid metabolism programming induced by a maternal sucrose-rich diet. VI Latin American Symposium on Maternal-Fetal Interaction and Placenta and V Latin American Symposium on Reproductive Immunology Meeting 2015. *Placenta*. **36**: 486.
24. Snedecor W. P.; Cochran W. G. 1967. *Statistical methods*. Ames: Iowa State University Press.
25. Soria, A.; Chicco, A.; Mocchiutti, N.; Gutman, R.; Lombardo, Y. B.; Martín-Hidalgo, A.; Herrera, E., 1996. A sucrose-rich diet affects triglyceride metabolism differently in pregnant and nonpregnant rats and has negative effects on fetal growth. *J. Nutr*. **126**: 2481-2486.
26. Rodriguez, L.; Panadero, M.I.; Roglands, N.; Otero, P.; Alvarez-Millan, J.J.; Laguna, J.C.; Bocos, C., 2013. Fructose during pregnancy affects maternal and fetal leptin signaling. *J. Nutr. Biochem*. **10**: 1709-1716.
27. Ornoy, A.; Cohen, A.M., 1980. Teratogenic effects of sucrose diets in diabetic and non-diabetic rats. *Isr. J. Med. Sci*. **16**: 789–791.
28. Dekker, M.J.; Su, Q.; Baker, C.; Rutledge, A.C.; Adeli, K., 2010. Fructose: a highly lipogenic nutrient implicated in insulin resistance, hepatic steatosis, and the metabolic syndrome. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab*. **299**: E685–E694.
29. D'Alessandro, M.E.; Selenscig, D.; Illesca, P.; Chicco, A.; Lombardo, Y.B., 2015. Time course of adipose tissue dysfunction associated with antioxidant defense, inflammatory cytokines and oxidative stress in dyslipemic insulin resistance in rats. *Food & Functions* **6**: 1299-1309.
30. Škottová, N.; Kazdová, L.; Oliyarnyk, O.; Vecera, R.; Sobolová, L.; Ulrichová, J., 2004. Phenolics-rich extracts from *Silybum marianum* and *Prunella vulgaris* reduce a high-sucrose diet induced oxidative stress in hereditary hypertriglyceridemic rats. *Pharmacological Research* **50**: 123-130.
31. Al-Naemi, R.S.; Abdullah, Q.H.; Ibrahim, S.A., 2012. Impact of oxidative stress on pregnancy outcome in albino rats. *Iraqi Journal of Veterinary Sciences*. **26**: 93-99.
32. Panchal, S. K., Poudyal, H.; Brown, L., 2012. Quercetin ameliorates cardiovascular, hepatic, and metabolic changes in diet-induced metabolic syndrome in rats. *J. Nutr*. **142**: 1026–1032.
33. Xu, L.; Sun, L.; Lu, L.; Zhong, X.; Ma, Y.; Qin, J., 2014. Effects of quercetin on CYP450 and cytokines in aroclor 1254 injured endometrial cells of the pregnant rats. *BioMed Res International* ID 497508. <http://dx.doi.org/10.1155/2014/497508>.
34. Ailhaud, G.; Massiera, F.; Weill, P.; Legrand, P.; Alessandri, J-M.; Guesnet, P., 2006. Temporal changes in dietary fats: role of n-6 polyunsaturated fatty acids in excessive adipose tissue development and relationship to obesity. *Progress in Lipid Research* **45**: 203–236.
35. Vijay Kumar Reddy, K.; Akhilender Naidu, K., 2014. Maternal supplementation of  $\alpha$ -linolenic acid in normal and protein-restricted diets modulate lipid metabolism, adipose tissue growth and leptin levels in the suckling offspring. *Eur. J. Nutr.* DOI 10.1007/s00394-014-0755-3

- 36.** Korotkova, M.; Gabriellsson, B.; Lonn, M.; Hanson, L.-A.; Strandvick, B., 2002. Leptin levels in rat offspring are modified by the ratio of linoleic to  $\alpha$ -linolenic acid in the maternal diet. *J. Lipid Res.* **43**: 1743-1749.
- 37.** Ching, R. H. H.; Yeung, L. O. Y.; Tse, I. M. Y. Sit, W-H.; Li, E. T. S., 2011. Supplementation of bitter melon to rats fed a high-fructose diet during gestation and lactation ameliorates fructose-induced dyslipidemia and hepatic oxidative stress in male offspring. *J. Nutr.* **141**: 1664–1672.
- 38.** Koeners, M.P.; Braam, B.; van der Giezen, D.M.; Goldschmeding, R.; Joles, J.A., 2010. Perinatal micronutrient supplements ameliorate hypertension and proteinuria in adult fawn-hooded hypertensive rats. *Am. J. Hypertens.* **23**: 802–808.
- 39.** Racasan. S.; Braam, B.; van der Giezen, D.M.; Goldschmeding, R.; Boer, P.; Koomans, H.A.; Joles, J.A., 2004. Perinatal L-arginine and antioxidant supplements reduce adult blood pressure in spontaneously hypertensive rats. *Hypertension.* **44**: 83–88.
- 40.** Pawlosky, R.J.; Hibben, J.R.; Novotny, J.A.; Salem, N. Jr., 2001. Physiological compartmental analysis of  $\alpha$ -linolenic acid metabolism in adult humans. *J. Lipid. Res.* **42**: 1257-1265.
- 41.** Gibson, R.A.; Muhlhausler, B.; Makrides, M., 2011. Conversion of linoleic acid and alpha-linolenic acid to long-chain polyunsaturated fatty acids (LCPUFAs), with a focus on pregnancy, lactation and the first 2 years of life. *Maternal Child Nutr.* **7**: 17-26.